

TRABAJO DE FIN DE GRADO

LA NEURONA CANDELABRO



VICTORIA EUGENIA MERCADER CARRIÓN

6º Curso Medicina

2014-2015

Tutor

Dr. Primitivo Contamina

Dpto. Anatomía e Histología Humanas

Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

	<u>pág.</u>
Resumen / Palabras clave	2
Abstract / Key words	3
Introducción	4
Arquitectura del neocórtex	4
Tipos del neuronas corticales	5
Neuronas piramidales	5
Neuronas no piramidales	7
Neurona candelabro	9
Distribución	10
Origen y desarrollo	10
Morfología	11
Árbol dendrítico	11
Axón	12
Neurotransmisores	14
Función inhibidora de la neurona candelabro	16
Función excitadora de la neurona candelabro	17
Neuronas candelabro y enfermedad	21
Neuronas candelabro y esquizofrenia	21
Alteraciones de la neurotransmisión GABAérgica	22
Afectación de las neuronas candelabro	23
Alteraciones en el segmento inicial del axón de la neurona piramidal	24
Neuronas candelabro y epilepsia	25
Referencias bibliográficas	27

RESUMEN

La neurona candelabro se caracteriza por ser una de las interneuronas inhibitoras más importantes del córtex cerebral. Se encuentra en todas las capas de la corteza pero es mucho más abundante en las capas II y III. En cuanto a la morfología, su árbol dendrítico es variable, pudiendo ser bipenachadas, bipolares e incluso multipolares. Sin embargo, lo que caracteriza principalmente a estas neuronas son sus terminales axonales: Estos salen de las distintas ramas dendríticas y se orientan verticalmente, asemejándose a una lámpara candelabro. Los terminales axonales contactan exclusivamente con el segmento inicial del axón de las neuronas piramidales por lo que también reciben el nombre de neuronas “axo-axónicas”.

Utilizan el GABA como neurotransmisor y expresan además las enzimas GAD65 y GAD67, que junto con la regulación de los receptores GABA_A y de los cotransportadores de cloro (KCC2 y NKCC1) proporcionan a la neurona candelabro su característica función inhibitora. Desde hace unos años se vienen aportando pruebas de la existencia de una función excitadora por parte de estas neuronas. Por el momento, se ha demostrado su capacidad de despolarizar y generar potenciales de acción en las neuronas piramidales mediante distintas técnicas, aunque se necesitan estudios más amplios para conocer el papel que juegan las neuronas candelabro en el control de la comunicación neuronal.

Estas neuronas además, tienen una especial relevancia en distintas enfermedades como la esquizofrenia y la epilepsia. Tanto los diferentes elementos de la transmisión GABAérgica (GAD65 y GAT-1), como el número de neuronas candelabro se ven afectados en estas enfermedades, resultando en una alteración de la función inhibitora normal.

PALABRAS CLAVE

Neurona candelabro, GABA, KCC2, esquizofrenia, epilepsia, GAD.

ABSTRACT

The Chandelier neuron is considered to be the most distinctive type of inhibitory interneuron in the cerebral cortex. It is found in all layers of the cortex but is most common in layers II and III. Regarding morphology, their dendritic tree is quite variable and can be bitufted, bipolar and even multipolar. But these neurons are well known due to their characteristic axonal terminals (cartridges): These come from different axonal branches and are vertically oriented, resembling the candlesticks of a chandelier lamp. The terminal buttons innervate only the axon initial segments of pyramidal neurons and, because of this, they were are also named "axo-axonic" neurons.

They use GABA as a neurotransmitter and express GAD65 and GAD67 enzymes. Along with GABA_A receptors and chloride cotransporters (KCC2 and NKCC1) regulation, provide their characteristic inhibitory function. Recent findings from several studies indicate that these neurons play a different functional role: the chandelier neurons may provide an excitatory effect on pyramidal neuron output. Now, has been confirmed its ability to depolarize the pyramidal neuron axon and promote firing action potentials through several techniques, but in the near future would be required new studies to elucidate the role that chandelier neurons play in controlling neuronal communication.

These neurons also have a special relevance in neuropsychiatric diseases such as schizophrenia and epilepsy. Both elements of GABAergic transmission, GAD65 and GAT-1, and the number of chandelier neurons are affected in these diseases, resulting in a disruption of normal inhibitory function.

KEY WORDS

Chandelier neuron, GABA, KCC2, schizophrenia, epilepsy, GAD.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este trabajo de fin de grado es hacer una revisión de los datos que se tienen de un tipo de neurona cortical muy peculiar, la neurona candelabro. Estudiaremos su morfología, distribución y función, además de su implicación en la patología neuropsiquiátrica. Antes de profundizar en esta neurona, es conveniente tener alguna información sobre la corteza cerebral, y diferenciar los dos grandes tipos de poblaciones neuronales corticales: las neuronas piramidales y las neuronas no-piramidales o interneuronas, familia a la que pertenece la neurona candelabro.

ARQUITECTURA DEL NEOCÓRTEX

Cuando se estudia la corteza cerebral con la tinción de Nissl (violeta de cresilo) o con hematoxilina-eosina se ve que la sustancia gris cortical está organizada en capas. La primera descripción de las capas corticales fue realizada por Meynert en 1867, que concluyó que existían cinco capas. Desde entonces hasta ahora, han existido numerosas clasificaciones y denominaciones.

En la actualidad, una de las descripciones más utilizada es la de Brodmann que distingue, en general, seis capas o láminas numeradas desde la uno (capa más externa) a la seis (la más profunda, adyacente a la sustancia blanca) y que presentan diferencias en cuanto a la densidad celular y tipos celulares que incluyen (Jones, 1984):

- Capa I. Plexiforme o molecular. Se caracteriza por tener una densidad celular muy baja.
- Capa II. Presenta una densidad muy elevada de células piramidales pequeñas.
- Capa III. Se subdivide en dos subláminas: una subcapa IIIa o superficial que presenta neuronas piramidales pequeñas, y una subcapa IIIb o profunda que está poblada por neuronas piramidales grandes.
- Capa IV. Se caracteriza por presentar una elevada densidad de células granulares que la diferencia de la capas III y V adyacentes. Esta capa permite dividir la corteza en capas supra- e infragranulares.

- Capa V. Presenta neuronas piramidales de tamaño medio y grande.
- Capa VI. Está poblada por neuronas heterogéneas en su morfología. Contiene un gran número de neuronas piramidales modificadas con morfología variable.

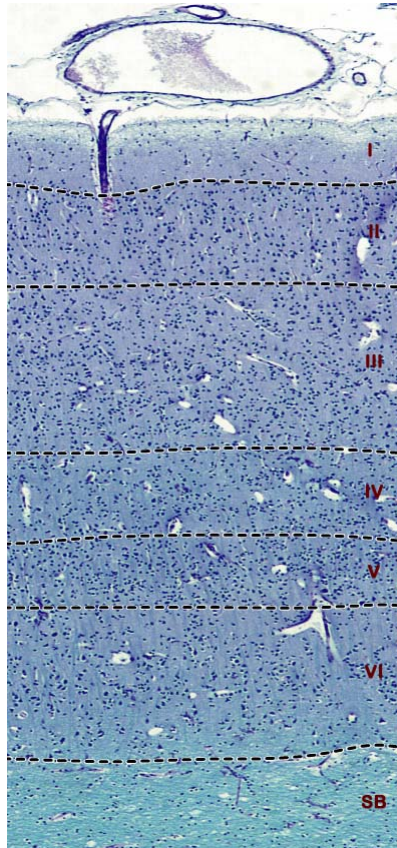


Fig. 1. Capas de la corteza cerebral. (Tomado de Ross y Pawlina, 2013)

TIPOS DE NEURONAS CORTICALES

El neocórtex contiene dos clases de neuronas: las neuronas piramidales y las neuronas no piramidales.

Neuronas piramidales

Las neuronas piramidales son las neuronas de proyección, que están presentes en todas las capas excepto la capa I, y son las más abundantes (aproximadamente entre 70-85% del total). En general son neuronas excitadoras y utilizan habitualmente ácido glutámico como neurotransmisor. Dan lugar a la mayor parte de las sinapsis excitadoras corticales (Jones, 1984; Lund, 1984; revisado en DeFelipe y Fariñas, 1992).

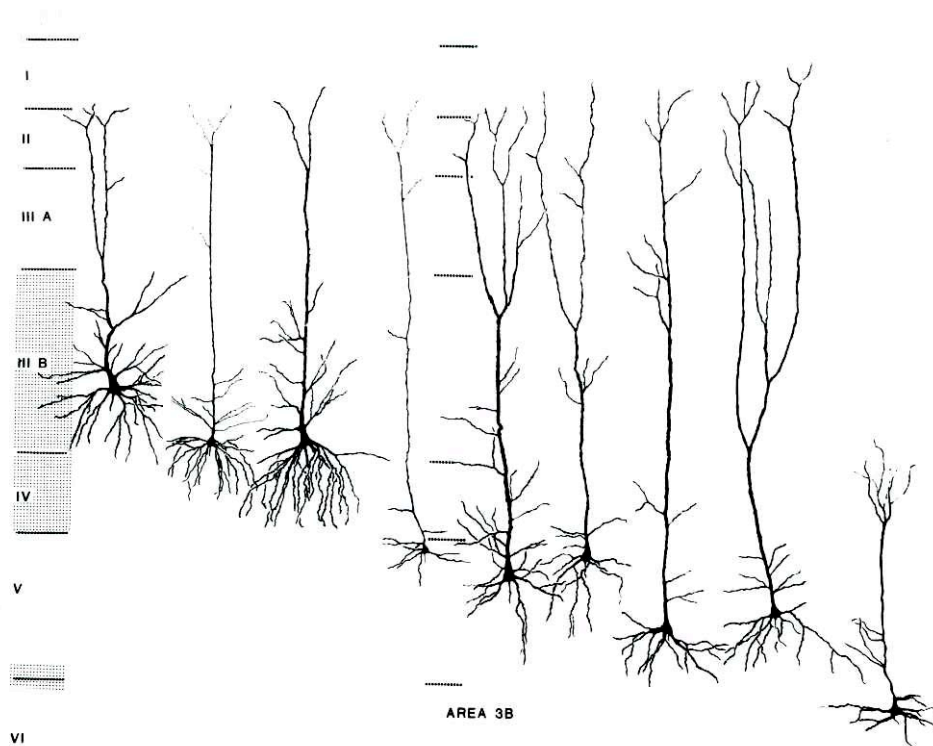


Fig. 2. Dibujo de unas neuronas piramidales en diversas capas de la corteza cerebral somatosensorial del mono. (Tomado de Jones, 1984)

Morfológicamente se caracterizan por la forma piramidal u ovoide de su soma del que surge la dendrita apical, que asciende hacia la superficie pial de la corteza, y, de la base del soma surgen, radialmente, las dendritas basales (Ramón y Cajal, 1899). La dendrita apical forma el penacho dendrítico terminal que frecuentemente alcanza la capa I, pero también puede acabar en capas inferiores, como ocurre con las neuronas piramidales de la capa IV (Feldman, 1984). Toda la superficie de las dendritas está cubierta de espinas, excepto las 10-20 μm proximales (revisado en Elston y DeFelipe, 2002). Las espinas dendríticas de las neuronas piramidales representan el principal elemento postsináptico de las sinapsis excitadoras en la neocorteza, mientras que el tallo dendrítico establece conexiones especialmente con interneuronas inhibitorias. El axón de la neurona piramidal, surge directamente desde el soma o bien de la parte proximal de una dendrita basal. El axón sigue un curso descendente hacia la sustancia blanca emitiendo colaterales locales (DeFelipe y Fariñas, 1992).

Las neuronas piramidales de cada capa cortical participan en distintos circuitos sinápticos y envían sus proyecciones a diferentes regiones del sistema nervioso (Jones, 1984)

Neuronas no piramidales

Las neuronas no piramidales son interneuronas, y contactan con otras neuronas de la misma zona de la corteza (Fairén et al., 1984). La mayoría de las neuronas no piramidales utilizan GABA como neurotransmisor y son inhibitoras. Forman cerca del 20-30% de todas las neuronas corticales (DeFelipe et al., 2002). La forma de las neuronas no piramidales es heterogénea y eso hace que se distingan varios tipos que se describen a continuación. Una de las neuronas no piramidales de la corteza cerebral, la neurona candelabro, es objeto de esta revisión y se describe aparte.

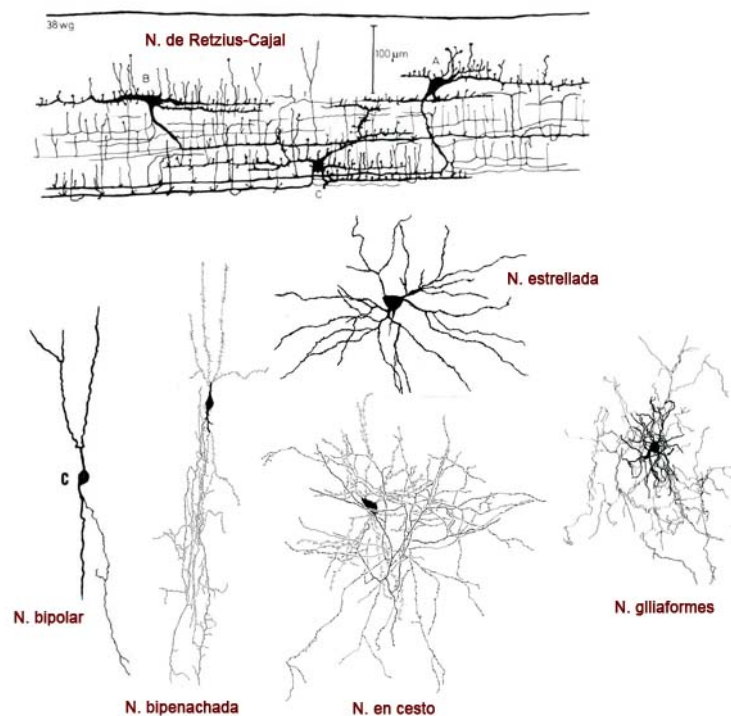


Fig. 3. Diversos tipos de neuronas no piramidales (Tomado de Peters y Jones, 1984)

Neuronas en cesto. El nombre de estas neuronas viene por la apariencia semejante a una cesta de sus segmentos preterminales axonales alrededor del soma de las neuronas diana. La descripción inicial decía que eran células largas multipolares con colaterales axonales largos horizontales (Ramón y Cajal, 1899). Según su morfología somatodendrítica, arborización axonal y expresión de las

proteínas unidas al Ca^{+2} (parvalbúmina y calbindina) y de neuropéptidos (Wang et al., 2002), se dividen en varias clases: grandes, pequeñas y las neuronas en cesto de “nido” (Marin-Padilla, 1969; Wang et al., 2002). Estas células representan aproximadamente la mitad de las neuronas inhibitorias en las capas corticales supragranulares.

Neuronas de Martinotti. Estas se han encontrado en las capas II-IV, pero con menos frecuencia que en la VI. Representan aproximadamente el 15% de la población neuronal. El soma frecuentemente tiene forma ovoide o en huso, pero también puede presentar otra morfología (Ramón y Cajal, 1899; Gabbott y Bacon, 1996). Las dendritas tienen forma de penacho, y la mayoría de ellas se extiende hasta capas infragranulares de la corteza. Su arborización dendrítica es la más extensa de todas las interneuronas. Los contactos sinápticos son simétricos y en todas las capas de la corteza, la mayoría (70%) se localizan en los ejes dendríticos de las neuronas piramidales o, con menor frecuencia, sobre las dendritas de otras interneuronas.

Neuronas en “double-bouquet” (bipenachadas). Aparecen en las capas II-V, aunque preferentemente se distribuyen en las capas supragranulares. Frecuentemente exhiben una morfología dendrítica en doble penacho. Los axones son descendentes, orientados verticalmente y se arremolinan en fascículos que recuerdan a la “cola de caballo”. Estas neuronas inervan espinas dendríticas. Participan en la inhibición de la capa intermedia. Expresan calretinina y calbindina, y a veces VIP (péptido intestinal vasoactivo) (Markram et al., 2004).

Neuronas bipolares. Son pequeñas, con cuerpo ovoide o en huso, se encuentran en las capas II-VI. Las dendritas bipolares se extienden superficialmente hasta la capa I y profundamente hasta la capa VI.. Los axones y sus colaterales forman una banda estrecha que atraviesa todas las capas. El número de botones terminales es bajo y solo contactan dendritas de unas pocas células, principalmente neuronas piramidales. Las neuronas bipolares normalmente expresan calretinina y VIP; pueden ser excitadoras (positivas a VIP) o inhibitorias (GABAérgicas) (Markram et al., 2004).

Células neurogliaformes. Son pequeñas con un soma redondeado que da lugar a un vasto número de dendritas pequeñas que irradian formando una estructura

esférica. Fueron descritas por primera vez por Ramón y Cajal (1899) como células “en tela de araña”. Los axones son finos y densamente ramificados. Se han descrito en todas las capas corticales (Kawaguchi y Kubota, 1997; Krimer et al., 2005). Establecen sinapsis no solo unas con otras, sino con otros tipos de interneuronas en el neocórtex, como las neuronas en cesto y las candelabro (Simon et al, 2005). Estas células forman sinapsis inhibitorias en las dendritas de las neuronas de proyección. Parte de ellas expresan calbindina y NPY.

Neuronas de Cajal-Retzius: Tienen un soma ovoide con largas dendritas horizontales y arborizaciones axonales que quedan restringidas a la capa I. Las colaterales forman un denso plexo horizontalmente orientado en la capa I. Datos recientes indican que estas células contienen altos niveles de glutamato, en contraste con los estudios previos que afirmaban que podían ser GABAérgicas. Además, expresan calretinina y con menor frecuencia, calbindina. Reciben directamente sinapsis excitadoras desde el tálamo. Sus axones parecen establecer sinapsis con las dendritas apicales de las neuronas piramidales (Soriano y del Río, 2005; Kirmse et al., 2007).

NEURONA CANDELABRO

El nombre de la neurona se debe al aspecto característico que presenta su arborización axonal. El axón está muy ramificado y sus ramificaciones terminales, paralelas entre sí, son perpendiculares a la superficie cortical y semejan los brazos de un candelabro. Cada ramificación terminal presenta una serie de dilataciones que son los botones sinápticos.

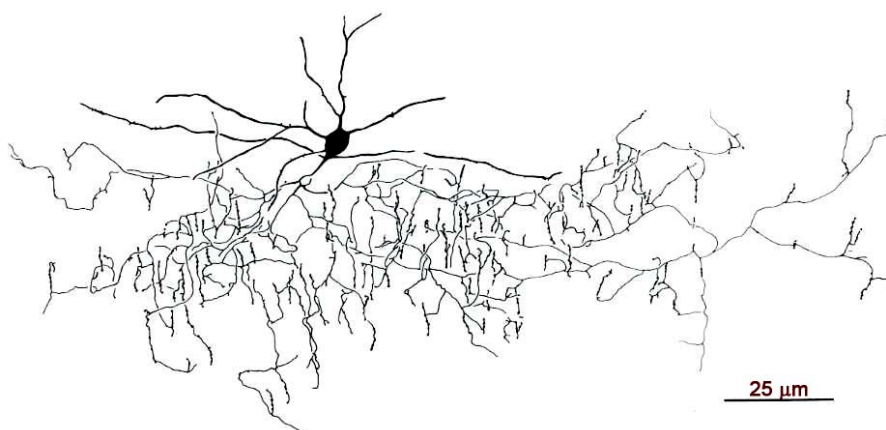


Fig. 4.
Dibujo de una neurona candelabro impregnada con el método de Golgi en la capa II de la corteza cerebral de la rata (área 41). (Tomado de Peters, 1984)

Las neuronas candelabro no fueron descritas por Ramón y Cajal, y no sería hasta 1974, cuando Szentágothai y Arbib las descubrieran en el córtex cingular del gato. Posteriormente, Jones (1975) también visualizó unas neuronas de características similares en el córtex somatosensorial del mono, definiéndolas como “células tipo IV”.

En un principio, Szentágothai (1975) creyó que contactaban con la dendrita apical de las células piramidales. Más tarde (Somogyi, 1977, 1979) haciendo estudios ultraestructurales de neuronas candelabro teñidas con la tinción de Golgi demostró que contactaban exclusivamente con el segmento inicial del axón de las neuronas piramidales, formando sinapsis simétricas (inhibidoras). Por eso las neuronas candelabro también reciben el nombre de “neuronas axo-axónicas”. Las neuronas candelabro no contactan con otras interneuronas.

Distribución

Las neuronas candelabro se encuentran en todas las capas de la corteza, pero en mayor número en las capas II/III. Aunque originalmente se describieron en el neocórtex, también se han encontrado en otros sitios: la amígdala, el córtex piriforme, el córtex entorrinal, subículo, hipocampo y córtex cingular (Szentágothai y Arbib, 1974; Jones, 1975; Fairén y Valverde, 1980; Somogyi et al., 1982; Soriano et al., 1990; Schmidt et al., 1993; Buhl et al., 1994; Gabbott y Bacon., 1996).

Origen y desarrollo

Mediante estudios de trasplante de distintas líneas de progenitores que expresan Nkx2.1, se ha conocido que las neuronas candelabro se originan en la región ventral de la eminencia ganglionar medial en los últimos estadios de la neurogénesis cortical en el ratón (Inan et al., 2012, 2014; Taniguchi et al., 2013).

Taniguchi et al. (2013) han observado la migración de los precursores de las neuronas candelabro desde la eminencia ganglionar medial. Los precursores migran inicialmente a lo largo de la región periventricular hasta que alcanzan el córtex en el nacimiento. Inicialmente, entran en la zona ventricular y luego invaden la placa cortical, alcanzando la capa I en los primeros días postnatales. Finalmente, estas neuronas alcanzan su destino en la corteza entre los días 3-7. En el día 7, las neuronas candelabro inmaduras forman un denso plexo en el borde de las capas II y I. Algunas de estas neuronas también son detectadas en la capa V. Alrededor del

día 20, la mayoría de las neuronas inmaduras muere y se forman las dendritas y la característica arborización axonal en las neuronas que sobreviven.

Morfología

La mayor parte de los estudios que han permitido conocer la forma de las neuronas candelabro se han llevado a cabo con la tinción de Golgi (Jones, 1975; Szentágothai, 1975; Somogyi, 1977; Fairén y Valverde, 1980; Peters et al., 1982; Somogyi et al., 1982; DeFelipe et al., 1985; Kisvárdy et al., 1986; Marin-Padilla, 1987; Lewis y Lund, 1990). Con esta técnica se ha visto que todas las neuronas candelabro tienen un axón con un patrón de ramificación similar, pero el árbol dendrítico puede presentar diversas formas.

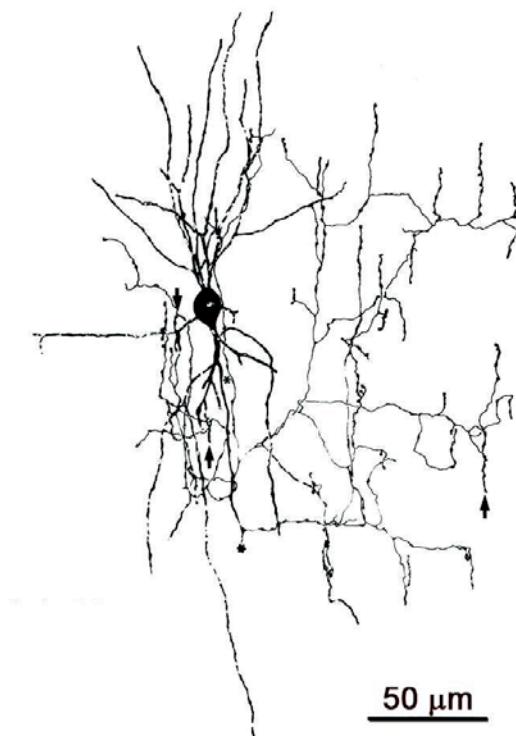


Fig. 5. . Dibujo de una neurona candelabro impregnada con el método de Golgi. (Tomado de Somogyi et al., 1982)

Árbol dendrítico

La mayoría de las neuronas candelabro presentan árboles dendríticos orientados radialmente (bipolares), bipoenachados u ovalados emergiendo de un cuerpo celular fusiforme. Otras tienen un árbol dendrítico más multipolar con las dendritas emergiendo de manera más aleatoria de la superficie un cuerpo redondeado. Las dendritas de estas neuronas son lisas, aunque en algún caso pueden presentar alguna espina (Peters, 1984).

Las neuronas situadas en las capas superficiales tienen dendritas que puedan llegar tan lejos como la porción más externa de la capa I, donde se disponen más tangencialmente, paralelas a la superficie de la piamadre, mientras que las dendritas del penacho basal puede alcanzar la capa IV. Además, tal y como vieron Fairén y Valverde (1980), el penacho ascendente de las dendritas es frecuentemente más abundante que el descendente, y esta disparidad puede ser tan pronunciada que resulta en una morfología que recuerda a la célula en “forma de llama” descrita por Szentágothai (1975).

Axón

Los axones de las neuronas candelabro en el córtex de la rata (Peters, 1982) emergen directamente del cuerpo celular de una de las dendritas descendentes primarias cercanas al soma. El tronco axonal más grueso entonces desciende, dando lugar a ramas colaterales que se extienden en ángulos rectos del tronco primario, y sigue ramificándose para producir un plexo abundante en la vecindad del cuerpo celular.

En el córtex somatosensorial del mono (Jones, 1975) la disposición del plexo axonal depende de la localización del cuerpo celular primitivo. Así, las neuronas candelabro con soma en la capa III y IV tienden a tener axones ascendentes, mientras que aquellas con soma en la capa II y la parte más superficial de la capa III tienden a tener axones descendentes, y neuronas en el medio de la capa III tienen axones de ambas clases en similar medida. Esta última disposición del axón es también similar a la mostrada en las neuronas candelabro de la capa IV del área visual secundaria del córtex del mono.

En todos los casos, sin embargo, el plexo axonal da numerosas prolongaciones axónicas, orientadas verticalmente, que asemejan a los brazos de un candelabro y son típicas de esta neurona. En la rata, cada “brazo” consiste en una prolongación de dilataciones axonales unidas por unas finas hebras, así, estas dilataciones se asemejan a un “collar de perlas”. Algunas de estas prolongaciones puede medir unos 30 μm de largo y los intervalos entre dilataciones sucesivas (“las perlas”) varía entre 2 y 5 μm , (Peters et al., 1982) con una media de 5 a 7 dilataciones en cada prolongación (Somogyi, 1977).

El plexo axonal formado dentro de la vecindad del soma puede llegar a 200 μm de ancho. La profundidad que ocupa puede variar y en muchas preparaciones de Golgi parece estar contenido dentro de un espacio cilíndrico. Sin embargo, más tarde Fairén y Valverde (1980) concluyeron que realmente, las prolongaciones axonales están agregadas dentro de bloques estrechos del tejido cortical.

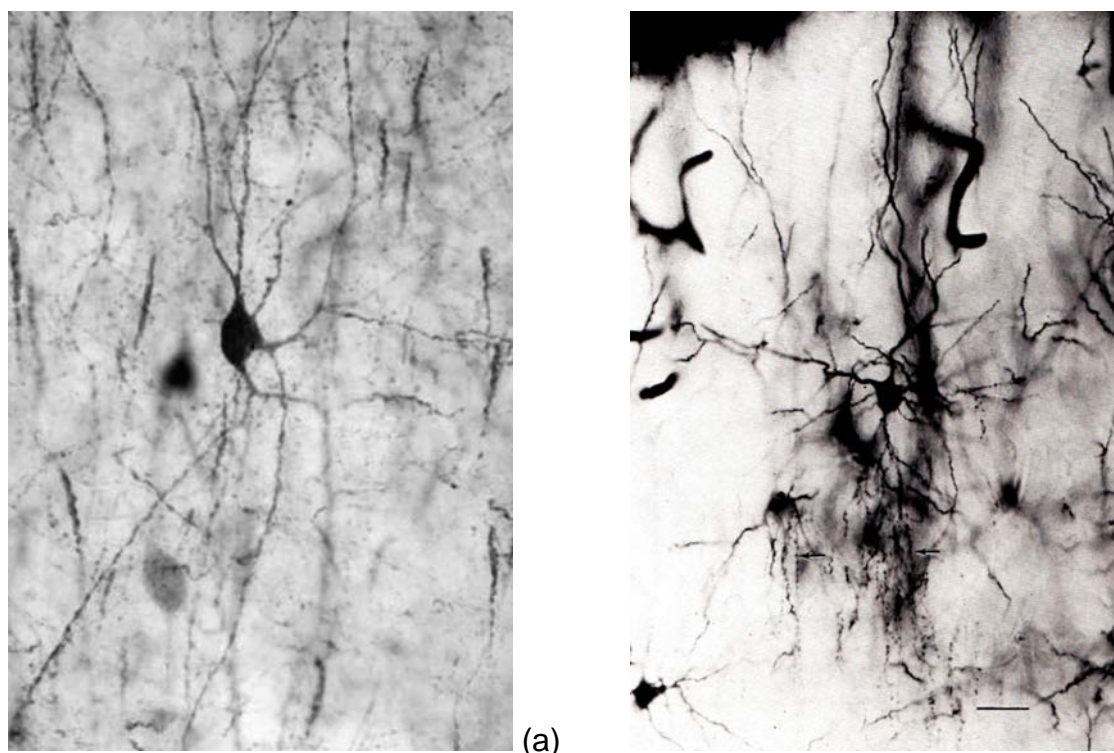


Fig. 6. (a) Fotografía de una neurona candelabro inmunoteñida con parvalbúmina. (Tomada de DeFelipe et al., 1989). (b) Neurona candelabro en la capa II del área 17 del córtex visual de la rata impregnado con Golgi-Kopsch. La neurona tiene dendritas que emergen preferentemente de las capas superior e inferior del cuerpo celular, y algunas de las dendritas del penacho superior alcanzan la piamadre. El axón emerge desde la capa más baja del soma y forma los característicos terminales axonales (flechas). (Tomada de Peters, 1984).

Los terminales axonales de las células candelabro establecen contacto sináptico exclusivamente con el segmento inicial del axón de las neuronas piramidales vecinas (Peters, 1984). A veces las vesículas sinápticas se acumulan junto a una o dos pequeñas zonas activas, donde la hendidura entre las membranas pre y postsinápticas es aproximadamente 20 nm de ancho y hay una leve acumulación de material denso asociado con la “cara” citoplasmática de ambas membranas sinápticas. En otras uniones, sin embargo, las zonas activas son más extensas, así uno o dos zonas pueden ocupar mucha de la longitud de la interfaz entre las membranas pre y postsinápticas.

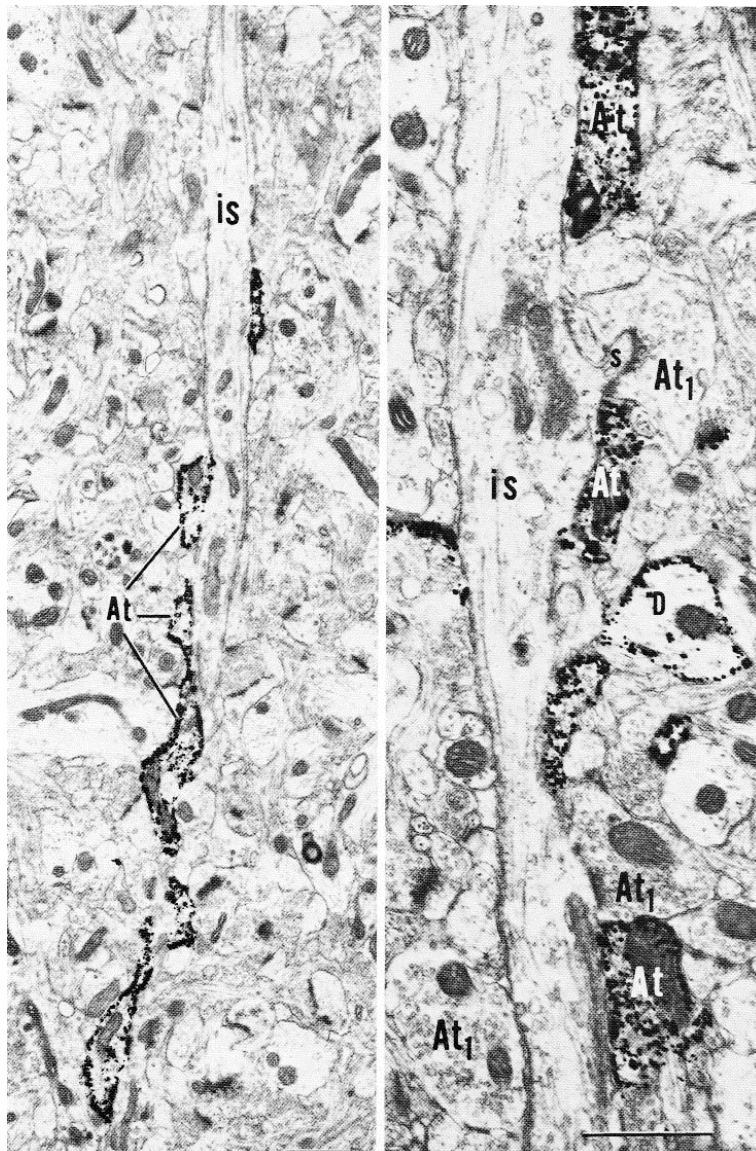


Fig. 7. Microfotografía electrónica de terminales axónicos (At) de una neurona candelabro marcada con oro alineados a lo largo del segmento inicial (is) del axón de una neurona piramidal de la capa III del córtex visual de la rata. (Tomado de Peters, 1984)

Neurotransmisores

Las neuronas candelabro usan un neurotransmisor inhibitor, el **GABA** (GABA: ácido gamma-aminobutírico), y expresa las enzimas GAD65 (GAD: ácido glutámico decarboxilasa) y GAD67, que sintetizan GABA a partir del ácido glutámico (Druga, 2009). La GAD67 está distribuido por toda la célula mientras que la GAD65 se localiza preferentemente en los terminales nerviosos. GAD67 sintetiza GABA para la actividad neuronal no relacionada con la neurotransmisión, como la sinaptogénesis. Esta función requiere una presencia ampliamente extendida del GABA. GAD65, sin embargo, sí que sintetiza GABA para la neurotransmisión. Existen diferencias en el desarrollo de ambas enzimas, y esto refleja las propiedades funcionales de cada una. Por un lado, GAD67 es necesaria durante todo el desarrollo de la función celular

normal, mientras que GAD65 no es necesaria hasta etapas más tardías del desarrollo, cuando la inhibición sináptica es más predominante (Pinal y Tobin, 1998).

El GABA, al actuar como neurotransmisor inhibitorio, se acopla al receptor de una neurona y reduce su nivel de actividad, haciendo menos probable el inicio del potencial de acción. Los receptores GABA son de varios tipos; los ionotrópicos (GABA_A) y los metabotrópicos (GABA_B y GABA_C).

Los **receptores GABA_A** abren canales de cloro y son por lo tanto inhibidores de la conducción del impulso nervioso (Volk et al., 2002). Estos receptores están compuestos de subunidades pentaméricas, conocidas como α , β y γ (Sieghart et al., 1999). Además, las diferentes subunidades alfa del receptor GABA_A tienen diferente distribución subcelular (Fritschy y Mohler, 1995). Por ejemplo, en las capas superficiales del córtex humano, la subunidad $\alpha 2$ se encuentra de manera predominante en el segmento inicial del axón de la neurona piramidal (Loup et al., 1998). De hecho, aunque está asociado con un 15% de todos los receptores GABA_A del córtex (Fritschy y Mohler, 1995), la subunidad $\alpha 2$ se ha encontrado en más del 80% de las sinapsis inhibitorias en el segmento inicial del axón de la neurona piramidal, en el hipocampo de la rata (Nusser et al., 1996; Nyíri et al., 2001). Los receptores GABA_A que contienen la subunidad $\alpha 2$ tienen una mayor afinidad por el GABA, tiempos de activación rápidos y desactivación más lentos, que aquellos receptores GABA_A que expresan la subunidad $\alpha 1$ (Levitan et al., 1988; Lavoie et al., 1997). De este modo, los receptores GABA_A que contienen la subunidad $\alpha 2$ parecen estar anatómicamente y funcionalmente adaptados para mediar la acción inhibitoria del segmento inicial del axón de las neuronas piramidales.

El **receptor GABA_B** es un receptor transmembrana unido a proteína G, que puede abrir los canales de potasio mediante segundos mensajeros (Chen et al., 2005). La apertura de los canales de potasio acaba hiperpolarizando la neurona. Esto previene que los canales de sodio dependientes de voltaje se abran y que sea menos probable el disparo del potencial de acción. Es un receptor heterodímero compuesto por dos subunidades: GABA_{B1} and GABA_{B2} (White et al., 1998).

El **receptor GABA_C** es también un canal de cloro operado por un ligando, el GABA (Chebib y Johnston, 1999). Este receptor GABA_C se considera como un tipo especial de GABA_A (Barnard et al., 1998).

Además de proteínas relacionadas con la síntesis del GABA, las neuronas candelabro están asociadas con ciertas proteínas unidas a calcio como la parvalbúmina (PV), expresada en casi todas las neuronas axo-axónicas (DeFelipe et al., 1989; Lewis y Lund, 1990; Schmidt et al., 1993; Condé et al., 1994; del Río y DeFelipe, 1994; Anderson et al., 1995) y la calbindina (Del Río y DeFelipe, 1997). Ni la parvalbúmina ni la calbindina son proteínas específicas de las neuronas candelabro, pues también son expresadas por otros tipos de neuronas.

Los terminales axonales de las neuronas candelabro han sido puestos de manifiesto por la presencia del transportador del GABA GAT-1, que regula la duración y eficacia de la neurotransmisión GABAérgica en la sinapsis (Jensen et al., 2003; Overstreet y Westbrook, 2003), aunque el GAT-1 marca la mayor parte de los botones sinápticos GABAérgicos, no solo los de las neuronas candelabro (DeFelipe y González-Albo, 1998).

Función inhibitoria de la neurona candelabro

Las neuronas candelabro son consideradas como las neuronas inhibitorias corticales más potentes.

El GABA liberado de los terminales presinápticos produce una hiperpolarización de la membrana postsináptica y, por tanto, un efecto inhibitorio sobre los elementos postsinápticos maduros (Druga, 2009). Este efecto inhibitorio está mediado por receptores GABA_A y modulado por los receptores presinápticos GABA_B (Buhl, et al., 1994). Como otras neuronas GABA corticales, el efecto del GABA liberado de los terminales axonales de las neuronas candelabro es mediado por la unión a los receptores GABA_A postsinápticos, cuyo resultado es la apertura de los canales de cloro (Druga, 2009). Así, cuando los receptores GABA_A son activados, los iones de cloro fluyen al interior del segmento inicial de la neurona piramidal conforme al gradiente existente, resultando en una hiperpolarización de la membrana, y una

menor posibilidad del disparo del potencial de acción de la neurona piramidal. En el cerebro adulto, el cotransportador cloro-potasio (KCC2) se encarga de sacar el cloro de la neurona piramidal al espacio extracelular para alcanzar las concentraciones intra- y extracelular de cloro previas al inicio de la activación de la sinapsis GABAérgica (Ben-Ari, 2002).

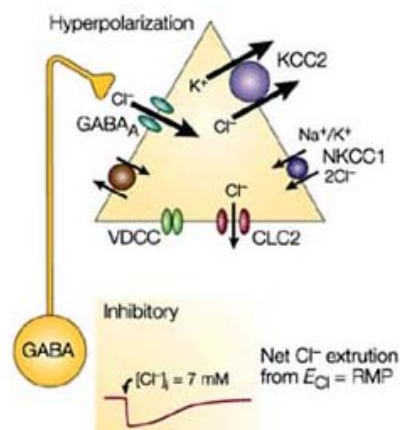


Fig. 8. Esquema que representa el cotransportador de Na^+ - K^+ - $2Cl^-$ (NKCC1), el cotransportador de K^+ - Cl^- (KCC2) y las corrientes de cloro dependientes de voltaje, así como los gradientes de los iones cloro. La expresión de KCC2 predomina en las neuronas maduras y por eso la $[Cl^-]_i$ es baja. La activación de los receptores $GABA_A$ genera un flujo hacia dentro del cloro y una inhibición de las neuronas adultas. [*CLC2*: canal de cloro operado por voltaje; E_{Cl} : potencial inverso de cloro; RMP : potencial de reposo de membrana (V_{rest}); *VDCC*: canal de calcio dependiente de voltaje.] (Tomado de Ben-Ari, 2002)

La función básica de este mecanismo es la supresión y modulación de la actividad de las neuronas piramidales corticales (Cherubini y Conti, 2001). La inhibición GABAérgica es necesaria para la normal función cortical, incluyendo la organización de los campos receptores sensoriales, modulación de la nitidez de sintonización de frecuencia y actividades oscilatorias corticales.

Función excitadora de la neurona candelabro

Como hemos visto anteriormente, las neuronas candelabro han sido siempre consideradas como las neuronas inhibitoras fundamentales de la corteza cerebral gracias a la proximidad de sus contactos sinápticos GABAérgicos al sitio donde se genera el potencial de acción en las neuronas piramidales.

Sin embargo, algunos estudios muestran efectos excitadores del sistema GABAérgico durante el desarrollo embrionario (Ben-Ari, 2002) y que las neuronas candelabro, las más características de las células gabaérgicas corticales, pueden provocar, además de una potente inhibición, efectos despolarizantes sobre las neuronas piramidales (Szabadics et al., 2006).

En fases tempranas del desarrollo posnatal del cerebro, el sistema GABAérgico juega un papel excitador, un papel que cambia a lo largo del desarrollo hasta cumplir, en el cerebro adulto, su conocida función inhibitoria. Este cambio de función se explica por los niveles de expresión de los dos transportadores transmembrana de cloro: NKCC1 y KCC2. Al principio predomina la expresión del NKCC1 y por eso la $[Cl^-]_i$ es elevada, lo que hace que la apertura de los canales de cloro dependientes del GABA conlleve una salida de cloro de la célula y por tanto una despolarización de la membrana. Cuando, a lo largo del desarrollo embrionario, va predominando la expresión del KCC2, este transportador extrae cloro de la célula y la $[Cl^-]_i$ es baja, lo que hace que la apertura de los canales de cloro dependientes del GABA conlleve una entrada de cloro en la célula y por tanto una hiperpolarización de la membrana con el consiguiente efecto inhibitorio en el cerebro adulto (Ben-Ari, 2002).

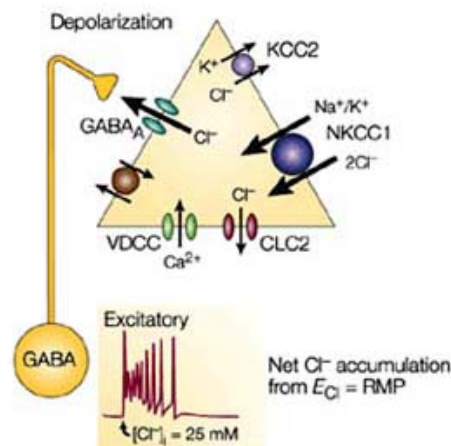


Fig. 9. Esquema que representa el cotransportador de $Na^+-K^+-2Cl^-$ (NKCC1), el cotransportador de K^+-Cl^- (KCC2) y las corrientes de cloro dependientes de voltaje, así como los gradientes de los iones cloro. Cuando, en el cerebro inmaduro, predomina la expresión de NKCC1, la $[Cl^-]_i$ es relativamente alta. La activación de los receptores GABA_A genera un flujo de salida de cloro y una excitación de las neuronas. [CLC2: canal de cloro operado por voltaje; E_{Cl} : potencial inverso de cloro; RMP: potencial de reposo de membrana (V_{rest}); VDC: canal de calcio dependiente de voltaje.] (Tomado de Ben-Ari, 2002)

El efecto despolarizador, y presuntamente excitador, de las neuronas candelabro corticales se demostró al registrar la actividad de neuronas piramidales tras la activación de neuronas candelabro corticales de la capa II-III (Szabadics et al., 2006). El efecto despolarizador se explicó por la existencia de una concentración local relativamente alta de cloro en el segmento inicial del axón debida a la relativa escasez del cotransportador cloro-potasio (KCC2) en la membrana del segmento inicial del axón. Este cotransportador transporta cloro fuera de la neurona y produce una baja $[Cl]_i$, así que, cuando los receptores GABA_A son activados y abren los canales de cloro, los iones de cloro del espacio extracelular entran en la neurona y la hiperpolarizan. Con una baja expresión de KCC2 en el segmento inicial del axón, el cloruro se acumula intracelularmente y esta región es más propensa a la despolarización cuando los receptores GABA_A son activados. De hecho, la despolarización mediada por las neuronas candelabro puede ser tan intensa que la neurona piramidal puede generar un potencial de acción.

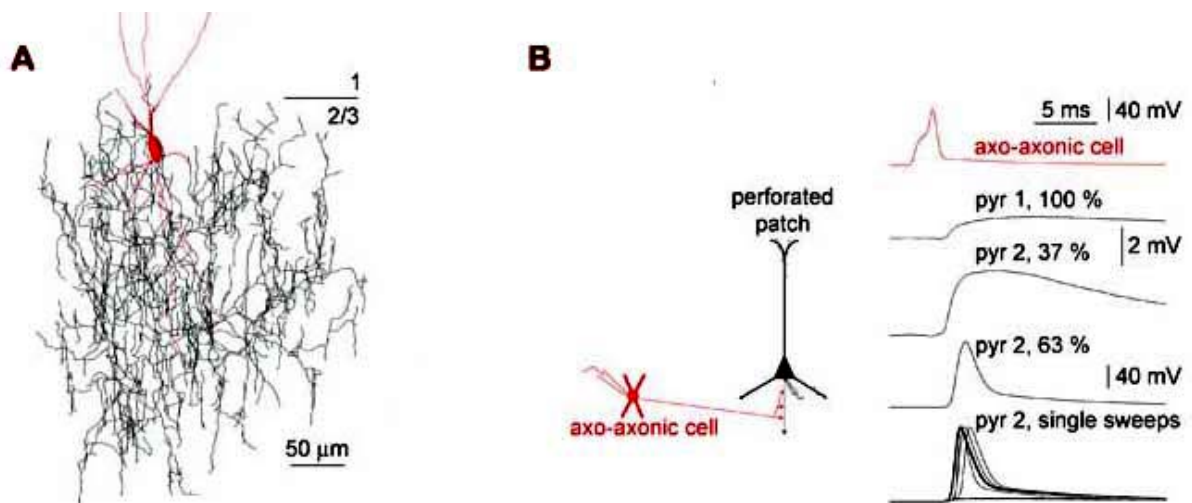


Fig. 10. Efecto despolarizante de las neuronas candelabro. (A) Reconstrucción de una neurona candelabro en las capas II-III del córtex de la rata. (B) Triple registro simultáneo de una neurona candelabro y dos neuronas piramidales, en modo *whole-cell patch*. Cada potencial de acción de una neurona candelabro produjo potenciales postsinápticos despolarizantes subumbrales en la neurona piramidal 1 (pyr 1) y provocó potenciales de acción postsinápticos en la mayoría de los intentos en la neurona piramidal 2 (pyr 2). (Tomado de Szabadics et al., 2006)

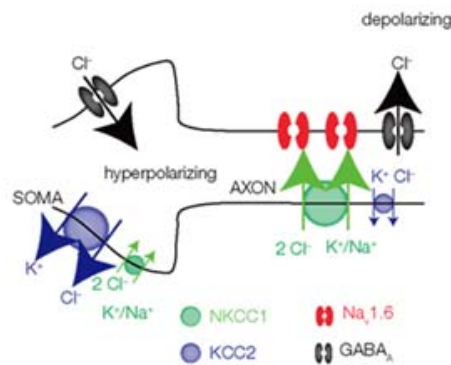


Fig. 11. Excitación GABAérgica. En el esquema se representan el soma y el axón de la neurona piramidal. El soma neuronal tiene una baja [Cl⁻]_i debido a la elevada expresión del KCC2 y la baja expresión del NKCC1. La activación del receptor GABA_A conduce a la hiperpolarización por la entrada de cloro a la célula. En el segmento inicial del axón, la expresión de los transportadores del catión cloro está invertida y la [Cl⁻]_i es más elevada, favoreciendo la salida de cloro y la despolarización cuando se abre el canal GABA_A. Los canales de sodio NaV1.6 de bajo umbral pueden ser activados por la despolarización, aumentando el efecto excitador. (Tomado de Woodruff et al., 2010)

La baja cantidad de KCC2 en la membrana del segmento inicial del axón se ha demostrado por medio de su inmunolocalización con partículas de inmuno-oro y su cuantificación en las diversas zonas de la membrana celular de las neuronas piramidales (Szabadics et al., 2006).

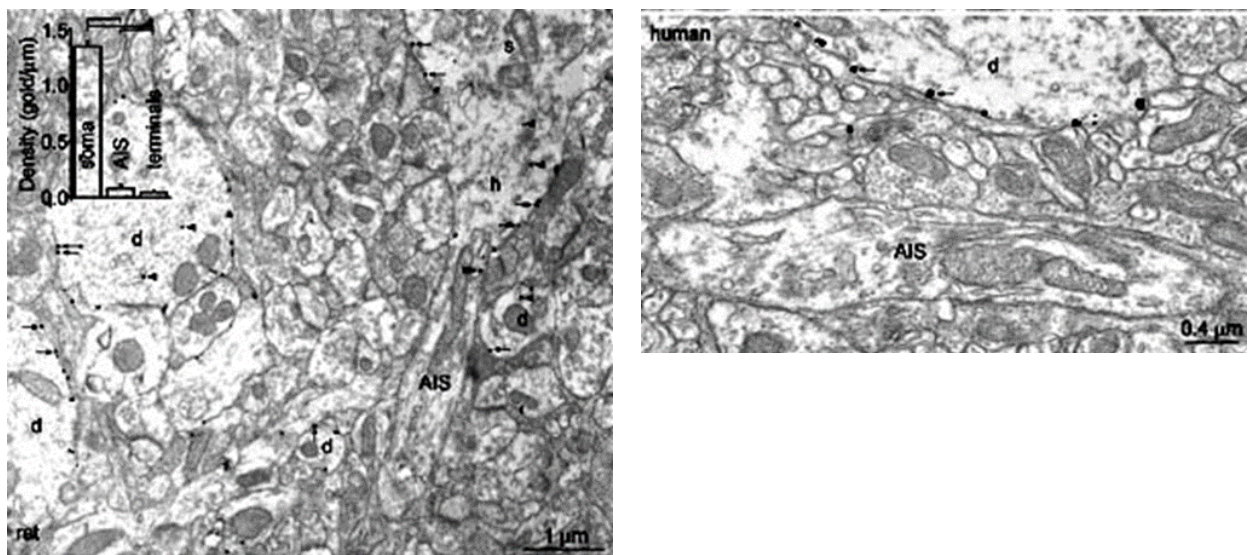


Fig. 12. Localización de inmunorreactividad de KCC2 en las capas II/III del córtex de la rata (izquierda) y del humano (derecha). El marcaje de KCC2 con partículas de oro (flechas) se han encontrado de manera predominante en las membranas somáticas (s) y dendríticas (d) así como en el citoplasma (cabeza de flechas). Las partículas de oro (doble flecha) también están unidas a la membrana del cono del axón (h), pero la densidad de las partículas de oro (doble cabeza de flechas) desciende en el segmento inicial del axón (AIS). Evaluación cuantitativa de la distribución inmuno-oro de KCC2 en los diferentes compartimentos subcelulares de neuronas piramidales corticales. Las barras indican diferencias significativas (Diagrama en la imagen izquierda) (Tomado de Szabadics et al., 2006).

A pesar de la controversia inicial generada por los resultados obtenidos por Szabadics et al. (2006), otros grupos han aportado datos confirmándolos (Woodruff et al., 2006; Molnár et al., 2008; Glickfeld et al., 2009; Woodruff et al., 2009). Aún así hay que tener cuidado a la hora de interpretar los resultados porque los experimentos se llevan a cabo “in vitro” en cortes de cerebro y el daño producido en los axones al hacer los cortes puede provocar una sobreexpresión del transportador NKCC1 y una infraexpresión del transportador KCC2 (Woodruff et al., 2010).

NEURONAS CANDELABRO Y ENFERMEDAD

El conocimiento de la actividad funcional de las neuronas candelabro corticales ha permitido en los últimos tiempos, relacionar ciertos procesos patológicos con el mal funcionamiento de estas neuronas. Las dos enfermedades relacionadas con la disfunción de las neuronas candelabro son la esquizofrenia y la epilepsia.

Neuronas candelabro y esquizofrenia

La esquizofrenia conlleva una disminución del volumen cerebral, aumento de volumen del sistema ventricular, al igual que cambios en la población neuronal. Según los resultados obtenidos en distintos trabajos, la disfunción que afecta al córtex prefrontal parece ser característica de la esquizofrenia. Por eso se ha estudiado en profundidad la existencia de cambios estructurales y funcionales de las áreas prefrontales. También los cambios en las neuronas GABAérgicas del córtex frontal han sido frecuentemente analizados (Druga, 2009).

Se han analizado los cambios de densidad de las neuronas inmunorreactivas a parvalbúmina, que abarcan cerca del 25% de las neuronas GABA en el córtex prefrontal dorsolateral de los primates. En autopsias realizadas a pacientes esquizofrénicos se observó una reducción de éstas en la capa IV de las áreas 9, 10 y 46 del córtex frontal y en el hipocampo. También se halló un descenso en la densidad de las neuronas inmunorreactivas a calbindina en la capa II del córtex. Por el contrario, muchos de los estudios realizados afirman que las neuronas inmunorreactivas a calretinina no se encuentran afectadas (Lewis y Moghaddam, 2006). Se ha sugerido que los déficits GABAérgicos encontrados en la esquizofrenia

podrían representar una alteración del desarrollo que resultara en una disfunción neuronal y el consecuente desarrollo de la enfermedad (Volk et al., 2000).

Alteraciones en la neurotransmisión GABAérgica

En estudios recientes postmortem de pacientes con esquizofrenia se evidenció una disminución en la síntesis y recaptación del GABA, además de un aumento en la unión de los receptores GABA_A en el neocórtex (revisado por Lewis, 2011).

Mediante distintas técnicas, como la PCR o la hibridación in situ, se ha encontrado niveles reducidos de la transcripción para GAD67 en el córtex prefrontal dorsolateral de estos pacientes (Akbarian et al., 1995; Duncan et al., 2010; Guidotti et al., 2000; Hashimoto et al., 2008; Volk et al., 2000).

Cabe subrayar que el déficit de la expresión de mRNA GAD67 no está restringido exclusivamente al córtex prefrontal dorsolateral. Diversos estudios han encontrado niveles reducidos de GAD67 también en el córtex cingular anterior, córtex motor primario y córtex visual primario en los sujetos con esquizofrenia (Hashimoto et al., 2008), sugiriendo que la síntesis de GABA se altera de manera similar en diferentes regiones neocorticales que difieren claramente en su citoarquitectura, conectividad y función. Estos hallazgos se compararon con otros sujetos, observándose el mismo déficit. (Impagnatiello et al., 1998; Thompson et al., 2009).

A nivel celular, no se detectó expresión del mRNA GAD67 en un 20-25% de las neuronas GABA de las capas II-V del córtex prefrontal dorsolateral en los sujetos con esquizofrenia, pero las neuronas GABA restantes exhibían niveles normales del mRNA GAD67. Además, los niveles de mRNA para el transportador de membrana GABA (GAT-1) se hallaron también disminuidos en un número similar de las neuronas GABA (Volk et al., 2001). Esto sugiere que tanto la síntesis como la recaptación del GABA está disminuida en una población de neuronas del córtex prefrontal en la esquizofrenia.

Afectación de las neuronas candelabro

Como hemos explicado anteriormente, las neuronas inmunorreactivas a parvalbúmina se ven afectadas en la esquizofrenia, entre ellas las neuronas candelabro. Según un estudio, en individuos con esquizofrenia el nivel de expresión de mRNA de parvalbúmina se encuentra disminuido en las capas III-IV, aunque el número de neuronas inmunorreactivas a parvalbúmina parece mantenerse intacto (Woo et al., 1997). Además, en el 50% de las neuronas que contienen parvalbúmina presentaban no se detecta mRNA GAD67. Por el contrario, el 50% de las neuronas GABA en el córtex prefrontal dorsolateral del primate que expresaban calretinina parece no verse afectado en la enfermedad (Revisado por Lewis, 2011).

En el córtex prefrontal dorsolateral de pacientes esquizofrénicos, la inmunorreactividad de GAT-1 parece verse preferentemente reducida en los terminales axonales de las neuronas candelabro (Woo et al., 1998). En el segmento inicial del axón de las neuronas piramidales, la inmunorreactividad de la subunidad $\alpha 2$ (presente en la mayoría de los receptores GABA_A en el segmento inicial del axón (Nusser et al., 1996) está especialmente aumentada en la enfermedad (Volk et al., 2002). Estos cambios parecen ser específicos del trastorno porque no han sido encontrados en sujetos con otras alteraciones psiquiátricas o en monos que han sido tratados con antipsicóticos de forma prolongada (Hashimoto et al., 2003; Volk et al., 2000; Volk et al, 2001; Volk et al, 2002).

Los cambios pre y postsinápticos de la inmunorreactividad en GAT-1 y en la subunidad $\alpha 2$ del GABA_A están inversamente correlacionadas, sugiriendo que indica el grado de alteración en la neurotransmisión GABA en la entrada de las neuronas candelabro hacia las neuronas piramidales. Según estos resultados, se sugiere que las reducciones en los marcadores GABA presinápticos (GAT-1 y parvalbúmina) y el aumento de los receptores GABA_A postsinápticos podrían resultar respuestas compensadoras al déficit de liberación del GABA de las neuronas candelabro (Volk et al., 2002).

Alteraciones en el segmento inicial del axón de la neurona piramidal

Existen otros procesos que afectan a la neurotransmisión GABA en el segmento inicial del axón de la neurona piramidal en la esquizofrenia. Además de las alteraciones ocurridas en los marcadores pre- y postsinápticos de la neurotransmisión, hay cambios en proteínas que regulan la estructura sináptica y el conjunto de canales iónicos en el segmento inicial del axón de la neurona piramidal (Cruz et al., 2009).

Las proteínas de membrana ankirina-G 480- y 270-kDa, y β IV espectrina, esta última a través de su interacción directa con la ankirina-G, se localizan en el segmento inicial del axón de las neuronas piramidales corticales, especialmente en las capas II-VI, en el córtex prefrontal dorsolateral humano. Son un componente importante en el mantenimiento de la estructura de la membrana y en su organización molecular, así como en la estabilidad del segmento inicial del axón (Cruz et al., 2009).

La densidad de la inmunorreactividad a ankirina-G en el segmento inicial del axón estaba significativamente disminuida en las capas II-III del córtex prefrontal dorsolateral de sujetos con esquizofrenia. Sin embargo, la densidad de inmunorreactividad a ankirina-G de las capas V-VI no presentó cambios respecto al grupo control. Dado que la ankirina-G es esencial para el anclaje de los canales de sodio al segmento inicial del axón, la esquizofrenia puede estar asociada con un número menor de canales de sodio en el segmento inicial del axón y una disminución de la capacidad de las neuronas piramidales de las capas II-III para generar potenciales de acción (Cruz et al., 2009).

La especificidad laminar de las alteraciones de la inmunorreactividad a ankirina-G en el segmento inicial del axón en la esquizofrenia concuerda con los cambios en la inmunorreactividad a GAT-1 de los terminales axonales de las neuronas candelabro y la inmunorreactividad a la subunidad $\alpha 2$ de los receptores GABA_A del segmento inicial del axón (Volk et al., 2002),

Las densidades de la inmunorreactividad del segmento inicial del axón para ankirina-G (Cruz et al., 2009) y para la subunidad $\alpha 2$ del receptor GABA_A (Volk et al., 2002) en las capas superficiales tenían una importante correlación inversa en sujetos esquizofrénicos, pero no en los sujetos controles, sugiriendo que existe un factor

común que puede contribuir a estos cambios tanto en la ankirina-G como en la subunidad $\alpha 2$ de los receptores GABA_A en las capas II-III del córtex prefrontal dorsolateral de sujetos con esquizofrenia. Por lo que, si la innervación GABAérgica es necesaria para la localización de la ankirina-G y la formación del segmento inicial del axón (Hedstrom et al., 2008), entonces una disminución de la neurotransmisión GABA por parte de las neuronas candelabro (por déficit de la expresión de GAD67) al segmento inicial del axón de las neuronas piramidales podría reflejarse en un descenso de ankirina-G y un aumento compensador de los receptores GABA_A contenedores de subunidad $\alpha 2$ (revisado por Lewis, 2011).

Neuronas candelabro y epilepsia

Debido a que las neuronas piramidales son la fuente principal de los axones corticales eferentes y de las colaterales intracorticales, son responsables de difundir la actividad epileptiforme. Esto hace a las neuronas candelabro particularmente relevantes en la epilepsia, tal y como fue propuesto originalmente por Somogyi et al. (1982).

Muchas hipótesis explican que el substrato morfológico de la epilepsia del lóbulo temporal está basado en alteraciones del sistema neuronal cortical glutamaérgico (excitador) y GABAérgico (inhibidor). En ciertos experimentos con animales epilépticos se ha visto que en el neocórtex epileptógeno hay una pérdida preferente de neuronas GABAérgicas: Las neuronas en cesto y las neuronas candelabro (Marco et al., 1996; Marco y DeFelipe, 1997). La pérdida inhibitoria en el foco epiléptico podría ser la causa de la actividad epiléptica.

Con el objetivo de identificar la pérdida de neuronas GABAérgicas en pacientes epilépticos, se realizaron experimentos para detectar la parvalbúmina con técnicas inmunocitoquímicas (DeFelipe, 1999). La disminución aparentemente afectaba siempre a los terminales axonales de las neuronas candelabro y, en mayor o menor medida, a otros tipos de neuronas inmunorreactivas a parvalbúmina, como los terminales axonales de las neuronas en cesto. En un primer momento no se vieron cambios en la inmunotinción, pero mediante una inspección más precisa en el neocórtex temporal epileptógeno se observó una disminución e incluso “ausencia”

de los terminales axonales de las neuronas candelabro, mientras que en otras regiones del córtex, todas las neuronas inmunorreactivas a parvalbúmina, incluidas las neuronas candelabro parecían verse afectado en distintos grados. Estos hallazgos indican que la inhibición perisomática ejercida por las neuronas en cesto y la axo-axónica ejercida por las neuronas candelabro pueden verse seriamente afectadas en el neocórtex epiléptico (Marco et al., 1996, 1997). Otro hallazgo fue un elevado descenso de neuronas inmunorreactivas a parvalbúmina en zonas no-malformadas del neocórtex temporal (Zamečnik et al., 2006)

En un modelo de estado epiléptico se utilizó un agente convulsionante, la pilocarpina (induce una fase aguda de estado epiléptico caracterizado por crisis tónico-clónicas que no ceden espontáneamente) en las áreas neocorticales, y se observó un descenso difuso de inmunoreactividad a parvalbúmina, GAD65 y GAT-1. Posteriormente se describió además un descenso en la inmunotinción de parvalbúmina neocortical en crisis no-convulsivas. La degeneración neuronal inducida por estatus epilépticos en distintas áreas del neocórtex fue también demostrado en animales inmaduros. (revisado por Druga, 2009).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akbarian S, Kim JJ, Potkin SG, Hagman JO, Tafazzoli A, Bunney WE Jr, Jones EG, 1995. Gene expression for glutamic acid decarboxylase is reduced without loss of neurons in prefrontal cortex of schizophrenics. *Arch Gen Psychiatry*. 52(4):258–266.
- Anderson SA, Classey JD, Conde F, Lund JS, Lewis DA, 1995. Synchronous development of pyramidal neuron dendritic spines and parvalbumin-immunoreactive chandelier neuron axon terminals in layer III of monkey prefrontal cortex. *Neuroscience*. 67(1):7–22.
- Barnard E, Skolnick P, Olsen R, Mohler H, Sieghart W, Biggio G, Braestrup C, Bateson A, Langer S, 1998. International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of γ -aminobutyric acidA receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. *Pharmacol Rev*. 50(2):291-313.
- Ben-Ari Y, 2002. Excitatory actions of GABA during development: the nature of the nurture. *Nat Rev Neurosci*. 3:728–739.
- Buhl EH, Han ZS, Lörinczi Z, Stezhka VV, Karnup SV, Somogyi P, 1994. Physiological properties of anatomically identified axo-axonic cells in the rat hippocampus. *J Neurophysiol*. 71(4):1289–1307
- Chebib M, Johnston GA, 1999. The 'ABC' of GABA receptors: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 26(11):937-940.
- Chen K, Li HZ, Ye N, Zhang J, Wang JJ, 2005. Role of GABAB receptors in GABA and baclofen-induced inhibition of adult rat cerebellar interpositus nucleus neurons in vitro. *Brain Res Bull*. 67(4): 310–8.
- Cherubini E, Conti F, 2001. Generating diversity at GABAergic synapses. *Trends Neurosci*. 24(3):155-162.
- Condé F, Lund JS, Jacobowitz DM, Baimbridge KG, Lewis DA, 1994. Local circuit neurons immunoreactive for calretinin, calbindin D-28k, or parvalbumin in monkey prefrontal cortex: Distribution and morphology. *J Comp Neurol*. 341(1):95–116.
- Cruz DA, Weaver CL, Lovallo EM, Melchitzky DS and Lewis DA., 2009. Selective Alterations in Postsynaptic Markers of Chandelier Cell Inputs to Cortical Pyramidal Neurons in Subjects with Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol*. 34(9):2112–2124.
- DeFelipe J, Hendry SH, Jones EG, Schemechel D, 1985. Variability in the terminations of GABAergic chandelier cell axons on initial segments of pyramidal cell axons in the monkey sensory-motor cortex. *J Comp Neurol*. 231(3):364-384.
- DeFelipe J, Hendry SH, Jones EG, 1989. Visualization of chandelier cell axons by parvalbumin immunoreactivity in monkey cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 86(6):2093–2097
- DeFelipe J, Fariñas I, 1992. The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog Neurobiol*. 39(6):563-607.
- DeFelipe J, and Gonzalez-Albo MC, 1998. Chandelier cell axons are immunoreactive for GAT-1 in the human neocortex. *NeuroReport*. 9(3):467–470
- DeFelipe J, 1999. Chandelier cells and epilepsy. *Brain*. 122(Pt 10):1807-22.
- DeFelipe J, Alons-Nanclares L, Arellano JI, 2002. Microstructure of the neocortex: comparative aspects. *J Neurocytol*. 31 (3-5):299-316
- Del Río MR, DeFelipe J, 1994. A study of SMI 32-stained pyramidal cells, parvalbumin-immunoreactive chandelier cells, and presumptive thalamocortical axons in the human temporal neocortex. *J Comp Neurol*. 342(3):389-408.
- Del Río MR, DeFelipe J, 1997. Colocalization of parvalbumin and calbindin D-28k in neurons including chandelier cells of the human temporal neocortex. *J Chem Neuroanat*. 12(3):165–173.
- Duncan CE, Webster MJ, Rothmond DA, Bahn S, Elashoff M, Shannon WC, 2010. Prefrontal GABA(A) receptor alpha-subunit expression in normal postnatal human development and schizophrenia. *J Psychiatr Res*. 44 (10):673-681.
- Druga R, 2009. Neocortical inhibitory System. *Folia Biol (Praha)*. 55(6):201-217.

- Elston GN, DeFelipe J, 2002. Spine distribution in cortical pyramidal cells: a common organizational principle across species. *Prog Brain Res.* 136:109-133.
- Fairén A, Valverde F, 1980. A specialized type of neuron in the visual cortex of cat: A Golgi and electron microscope study of chandelier cells. *J Comp Neurol.* 194(4):761-779.
- Fairén A, DeFelipe J, Regidor J, 1984. Nonpyramidal neurons. General account. In *Cerebral Cortex, Vol 1. Cellular components of the cerebral cortex.* Peters A, Jones EG (eds.). Plenum. pp.201-253.
- Feldman ML, 1984. Morphology of the neocortical pyramidal neuron. En: Jones EG, Peters A. *Cerebral Cortex.* New York: Plenum. pp.123- 200.
- Fritschy JM, Mohler H, 1995. GABA_A receptor heterogeneity in the adult rat brain: Differential regional and cellular distribution of seven major subunits. *J Comp Neurol.* 359(1):154-194.
- Gabbott, PL, Bacon SJ, 1996. Local circuit neurons in the medial prefrontal cortex (areas 24a, b, c, 25 and 32) in the monkey: I. Cell morphology and morphometrics. *J Comp Neurol.* 364(4):567-608.
- Glickfeld LL, Roberts JD, Somogyi P, Scanziani M, 2009. Interneurons hyperpolarize pyramidal cells along their entire somatodendritic axis. *Nat Neurosci.* 12(1):21–23.
- Guidotti A, Auta J, Davis JM, Gerevini VD, Dwivedi Y, Grayson DR, Impagnatiello F, Pandey G, Pesold C, Sharma R, Uzunov D, Costa E, 2000. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 57:1061–1069.
- Hashimoto T, Volk DW, Eggan SM, Mirnics K, Pierri JN, Sun Z, Sampson AR, Lewis DA, 2003. Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J Neurosci.* 23:6315–6326.
- Hashimoto T, Arion D, Unger T, Maldonado-Aviles JG, Morris HM, Volk DW, Mirnics K, Lewis DA, 2008. Alterations in GABA-related transcriptome in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 13(2):147–161.
- Hashimoto T, Bazmi HH, Mirnics K, Wu Q, Sampson AR, Lewis DA, 2008. Conserved regional patterns of GABA-related transcript expression in the neocortex of subjects with schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 165(4):479–489.
- Hedstrom KL, Ogawa Y, Rasband MN, 2008. AnkyrinG is required for maintenance of the axon initial segment and neuronal polarity. *J Cell Biol.* 183(4):635–640.
- Howard A, Tamás G, and Soltesz I, 2005. Lighting the chandelier: new vistas for axo-axonic cells. *Trends Neurosci.* 28(6):310-316.
- Impagnatiello F, Guidotti AR, Pesold C, Dwivedi Y, Caruncho H, Pisu MG, Uzunov DP, Smalheiser NR, Davis JM, Pandey GN, Pappas GD, Tuetting P, Sharma RP, Costa E, 1998. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95(26):15718–15723.
- Inan M, Welagen J, Anderson SA, 2012. Spatial and temporal bias in the mitotic origins of somatostatin-expressing and parvalbumin-expressing interneuron subgroups and the chandelier subtype in the medial ganglionic eminence. *Cereb Cortex.* 22(4):820-827.
- Inan M, Anderson SA, 2014. The chandelier cell, form and function. *Curr Opin Neurobiol.* 26:142–148.
- Jensen K, Chiu CS, Sokolova I, Lester HA, Mody I, 2003. GABA transporter-1 (GAT1)-deficient mice: differential tonic activation of GABAA versus GABAB receptors in the hippocampus. *J Neurophysiol.* 90:2690 –2701.
- Jones EG, 1975. Varieties and distribution of non-pyramidal cells in the somatic sensory cortex of the squirrel monkey. *J Comp Neurol.* 160(2): 205-267.
- Jones EG, 1984. Laminar distribution of cortical efferent cells. In *Cerebral Cortex, vol. 1. Cellular components of the cerebral cortex.* Peters A, Jones EG. (eds.). Plenum. pp. 521-553,
- Kawaguchi Y, Kubota Y, 1997. GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb Cortex.* 7(6):476-486.
- Kirmse K, Dvornzhak A, Henneberger C, Grantyn R, Kirischuk S, 2007. Cajal-Retzius cells in mouse neocortex receive two types of pre- and postsynaptically distinct GABAergic inputs. *J Physiol.* 585(pt 3): 881-895.

- Kisvárdy ZF, Adams CB, Smith AD, 1986. Synaptic connections of axo-axonic (chandelier) cells in human epileptic temporal cortex. *Neuroscience*. 19(4):1179-1186.
- Krimer LS, Zaitsev AV, Czanner G, Kröner S, González-Burgos G, Povysheva NV, Iyengar S, Barrionuevo G, Lewis DA, 2005. Cluster analysis-based physiological classification and morphological properties of inhibitory neurons in layers 2–3 of monkey dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurophysiol*. 94(5):3009-3022.
- Lavoie AM, Tingey JJ, Harrison NL, Protchett DB, Twyman RE, 1997. Activation and deactivation rates of recombinant GABA(A) receptor channels are dependent on alpha-subunit isoform. *Biophys J*. 73(5):2518-2526.
- Levitan ES, Schofield PR, Burt DR, Rhee LM, Wisden W, Köhler M, Fujita N, Rodriguez HF, Stephenson A, Darlison MG, Barnard EA, Seeburg PH, 1988. Structural and functional basis for GABAA receptor heterogeneity. *Nature*. 335(6185):76-79.
- Lewis DA, Lund JS, 1990. Heterogeneity of chandelier neurons in monkey neocortex: corticotropin-releasing factor- and parvalbumin-immunoreactive populations. *J Comp Neurol*. 293(4):599–615.
- Lewis DA, Moghaddam B, 2006. Cognitive dysfunction in schizophrenia: convergence of gamma-aminobutyric acid and glutamate alterations. *Arch Neurol*. 63(10):1372-1376.
- Lewis DA, 2011. The chandelier neuron in schizophrenia. *Dev Neurobiol*. 71(1):118–127.
- Loup F, Weinmann O, Yonekawa Y, Aguzzi A, Wieser HG, Fritschy JM, 1998. A highly sensitive immunofluorescence procedure for analyzing the subcellular distribution of GABAA receptor subunits in the human brain. *J Histochem Cytochem*. 46(10):1129-1139.
- Lund JS, 1984. Spiny stellate neurons. En: Peters A., Jones EG. *Cellular components of the cerebral cortex*. New York: Plenum. pp. 255-308.
- Marco P, Sola RG, Pulido P, Alijarde MT, Sánchez A, Ramón y Cajal S, DeFelipe J, 1996. Inhibitory neurons in the human epileptogenic temporal neocortex. An immunocytochemical study. *Brain*. 119(pt 4):1327-1347.
- Marco P, DeFelipe J, 1997. Altered synaptic circuitry in the human temporal neocortex removed from epileptic patients. *Exp Brain Res*. 114(1):1-10.
- Marin-Padilla M, 1969. Origin of the pericellular baskets of the pyramidal cells of the human motor cortex: a Golgi study. *Brain Res*. 14(3):633-646.
- Marin-Padilla M, 1987. The chandelier cell of the human visual cortex: A Golgi study. *J Comp Neurol*. 256(1):61-70.
- Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C, 2004. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci*. 5(10):793-807.
- Meynert T, 1867. Studien über das pathologische anatomische Material der Wiener Irren-Anstalt. *Monatsschrift für Psychiatrie und Neurologie*. 3:381-402.
- Molnár G, Oláh S, Komlósi G, Füle M, Szabadics J, Varga C, Barzó P, Tamás G, 2008. Complex events initiated by individual spikes in the human cerebral cortex. *PLoS Biol*. 6(9):e222.
- Nusser Z, Sieghart W, Benke D, Fritschy JM, Somogyi P, 1996. Differential synaptic localization of two major GABA(A) receptor α subunits on hippocampal pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 93(21):11939-11944.
- Nyíri G, Freund TF, Somogyi P, 2001. Input-dependent synaptic targeting of $\alpha 2$ subunit containing GABA(A) receptors in synapses of hippocampal pyramidal cells of the rat. *Eur J Neurosci*. 13(3):428-442.
- Overstreet LS, Westbrook GL, 2003. Synapse density regulates independence at unitary inhibitory synapses. *J Neurosci*. 23(7):2618-26.
- Peters A, Proskauer CC, Ribak CE, 1982. Chandelier cells in rat visual cortex. *J Comp Neurol*. 206(4):397-416.
- Peters A, 1984. Chandelier cells. In: *Cerebral Cortex*, vol. 1: Cellular components of the cerebral cortex. Peters A, Jones EG (eds.). Plenum. pp 361-380.
- Pinal CS, Tobin AJ, 1998. Uniqueness and redundancy in GABA production. *Perspect Dev Neurobiol*. 5(2–3):109–118.

- Ramón y Cajal S, 1899. Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Nicolás Moya, Madrid
- Ross MH, Pawlina W, 2013. Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. Ed. Panamericana, 6ª ed., Madrid.
- Schmidt S, Braak E, Braak H, 1993. Parvalbumin-immunoreactive structures of the adult human entorhinal and transentorhinal region. *Hippocampus*. 3(4):459–470.
- Sieghart W, Fuchs K, Tretter V, Ebert V, Jechlinger M, Hoyer H, Adamiker D, 1999. Structure and subunit composition of GABA(A) receptors. *Neurochem Int*. 34:379-385.
- Simon A, Oláh S, Molnár G, Szabadics J, Tamás G, 2005. Gap-junctional coupling between neurogliaform cells and various interneuron types in the neocortex. *J Neurosci*. 25(27):6278-6285.
- Somogyi P, 1977. A specific 'axo-axonal' neuron in the visual cortex of the rat. *Brain Res*. 136(2):345-350.
- Somogyi P, 1979. An interneuron making synapses specifically on the axon initial segment of pyramidal cells in the cerebral cortex of the cat [proceedings]. *J Physiol*. 296:18P-19P.
- Somogyi P, Freund TF, Cowey A, 1982. The axo-axonic interneuron in the cerebral cortex of the rat, cat and monkey. *Neuroscience*. 7(11):2577-2607.
- Soriano E, Nitsch R, Frotscher M, 1990. Axo-axonic chandelier cells in the rat fascia dentate. Golgi-electron microscopy and immunocytochemical studies. *J Comp Neurol*. 293(1):1-25.
- Soriano E, Del Río JA, 2005. The cells of Cajal-Retzius: still a mystery one century after. *Neuron*. 46(3):389-394.
- Szabadics J, Varga C, Molnár G, Oláh S, Barzó P, Tamás G, 2006. Excitatory effect of GABAergic axo-axonic cells in cortical microcircuits. *Science*. 311(5758):233–235.
- Szentágothai J, Arbib M, 1974. Conceptual models of neural organization, *Neurosci Res Program Bull*. 12(3):307-510.
- Szentágothai J, 1975. The "module-concept" in cerebral cortex architecture. *Brain Res*. 95(2-3):475-496.
- Taniguchi H, Lu J, Huang ZJ, 2013. The spatial and temporal origin of chandelier cells in mouse neocortex. *Science*. 339(6115): 70-74.
- Thompson M, Weickert CS, Wyatt E, Webster MJ, 2009. Decreased glutamic acid decarboxylase (67) mRNA expression in multiple brain areas of patients with schizophrenia and mood disorders. *J Psychiatr Res*. 43(11):970–977.
- Volk DW, Austin MC, Pierri JN, Sampson AR, Lewis DA, 2000. Decreased glutamic acid decarboxylase67 messenger RNA expression in a subset of prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid neurons in subjects with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 57(3):237–245.
- Volk DW, Austin MC, Pierri JN, Sampson AR, Lewis DA, 2001. GABA transporter-1 mRNA in the prefrontal cortex in schizophrenia: Decreased expression in a subset of neurons. *Am J Psychiatry*. 158(2):256–265.
- Volk DW, Pierri JN, Fritschy JM, Auh S, Sampson AR, Lewis DA, 2002. Reciprocal alterations in pre- and postsynaptic inhibitory markers at chandelier cell inputs to pyramidal neurons in schizophrenia. *Cereb Cortex*. 12(10):1063–1070.
- Wang Y, Gupta A, Toledo-Rodriguez M, Wu CZ, Markram H, 2002. Anatomical, physiological, molecular and circuit properties of nest basket cells in developing somatosensory cortex. *Cereb Cortex*. 12(4):395-410.
- White JH, Wise A, Main MJ, Green A, Fraser NJ, Disney GH, Barnes AA, Emson P, Foord SM, Marshall FH, 1998. Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA (B) receptor. *Nature*. 396(6712):679-682.
- Woo TU, Miller JL, Lewis DA, 1997. Schizophrenia and the parvalbumin-containing class of cortical local circuit neurons. *Am J Psychiatry*. 154(7):1013-1015.
- Woo TU, Whitehead RE, Melchitzky DS, Lewis DA, 1998. A subclass of prefrontal gamma-aminobutyric acid axon terminals are selectively altered in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95(9):5341-5346.
- Woodruff AR, Monyer H, Sah P, 2006. GABAergic excitation in the basolateral amygdala. *J Neurosci*. 26(46):11881–11887.

Woodruff A, Xu Q, Anderson SA, Yuste R, 2009. Depolarizing effect of neocortical chandelier neurons. *Front Neural Circuits*. 3:15.

Woodruff AR, Anderson SA, Yuste R, 2010. The enigmatic function of chandelier cells. *Front Neurosci*. 4:201.

Zamečník J, Kršek P, Druga R, Marusič P, Beneš V, Tichý M, Komárek V, 2006. Densities of parvalbumin-immunoreactive neurons in non-malformed hippocampal sclerosis-temporal neocortex and in cortical dysplasias. *Brain Res Bull*. 68(6):474-481.